

# KOLORIMETRISCHE BESTIMMUNGEN MIT HILFE DES LANGE-ROTH'SCHEN PHOTOMETERS.

## I. Mitteilung.

Von

**E. B. HATZ.**

Aus der Medizinischen Klinik der kgl. ung. F. J. Universität in Szeged,  
Direktor: Prof. Dr. STEFAN RUSZNYÁK.

(Eingelangt am 16. Mai 1936.)

Die Budapester Firma ERDÉLYI & SZABO beabsichtigt die Einführung eines lichtelektrischen Photometers, der nach dem System LANGE-ROTH<sup>1</sup> konstruiert wurde und überließ uns ihre neue

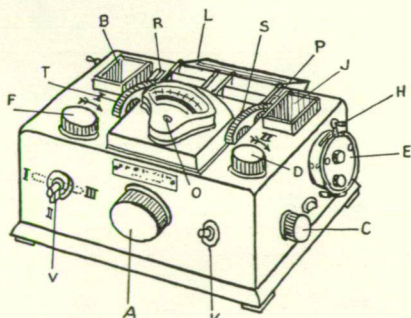


Abb. 1.

Konstruktion zur Erprobung. Wir haben den neuen Apparat an mehreren, im klinischen Laboratorium üblichen kolorimetrischen Bestimmungen erprobt und möchten über unsere Erfahrungen kurz berichten.

Die wesentlichsten Bestandteile des Instrumentes sind zwei, durch ein und dieselbe Glühlampe beleuchtete Photoelemente (E),

<sup>1</sup> Dr. ROTH PÁL: Klinikai laboratoriumi mérőmódszerek Lange-Roth Fényelektromos fotometerhez (Budapest).

die kompensiert gekuppelt sind, so daß der Reststrom mit Hilfe eines eingebauten Galvanometers (O) gemessen werden kann. Bei gleicher Belichtung der beiden Zellen zeigt die Galvanometernadel keinen Ausschlag; werden jedoch die zwei Zellen mit verschiedener Intensität belichtet (z. B. dadurch, daß man die Lichtstrahlen durch Lösungen von verschiedener Lichtabsorptionsfähigkeit passieren läßt), so zeigt die Galvanometernadel einen Ausschlag, dessen Größe genau mit der Belichtungsdifferenz der zwei Zellen, d. h. mit der Differenz der Absorptionsfähigkeit der angewandten Lösungen proportional ist.

Die Glühlampe kann (nach Zwischenschalten eines geeigneten Transformators) an die Beleuchtungsstromleitung, oder auch unmittelbar an eine Akkumulatorenbatterie von 6 V angeschlossen werden. Schalter „V“ dient zum Um- und Ausschalten des Galvanometers. Das Galvanometer ist bei Stellung II ausgeschaltet. Will man die zu messende — das größere Absorptionsvermögen zeigende — Flüssigkeit in die rechts eingesetzte (J) Küvette einfüllen, so muß der Schalter „V“ in Stellung III gebracht werden; beabsichtigt man die Meßküvette links (B) einzusetzen, wird der Schalter in Stellung I gebracht. Von den zwei eingebauten Widerständen wird F zur Feineinstellung, D zur Grobeinstellung des Galvanometers gebraucht. — Als Monochromatoren dienen verschiedene Lichtfilter, die auf einer drehbaren Scheibe angebracht sind (P, R).

Die Einstellung des Apparates: Vor der Messung wird das Galvanometer mit Hilfe der Schraube O genau auf den Nullpunkt eingestellt. Nun schaltet man die Lampe ein, und bringt den Schalter „V“ in Stellung III. Es empfiehlt sich, nach Einschaltung der Lampe 5—10 Minuten abzuwarten und erst nachher die Bestimmung vorzunehmen. Die Schraube D des einen Widerstandes wird in der entgegengesetzten Richtung des angebrachten Pfeiles fast bis zum Anstoß gedreht und hierauf die Lampe mit Hilfe der Schraube A zentriert. Ist dies richtig durchgeführt, so steht der Zeiger des Galvanometers auf dem Nullpunkt und darf seine Lage auch nach dem Verdrehen der Widerstandsschrauben nicht ändern. Nun werden D und F in der Richtung des Pfeiles bis zum Anstoß zurückgedreht und der gefederte Knopf C — im Sinne des Uhrzei-

gers — bis zum Anstoß gedreht. Dadurch wird die Photozelle E vollkommen verdunkelt. Jetzt stellt man mit Hilfe der Widerstände D und F die Galvanometernadel genau auf 100. Läßt man den Knopf C wieder los, so muß die Galvanometernadel genau auf den Nullpunkt zurückkehren. Sollte dies nicht der Fall sein, so muß durch geringe Verschiebung von A die Lage der Lampe korrigiert und die früher beschriebene Kontrolle (Einstellen des Galvanometers auf 100 usw.) nochmals wiederholt werden. In der Regel begnügt man sich nicht mit einer Kontrolle, auch wenn diese gleich befriedigend ausfällt.

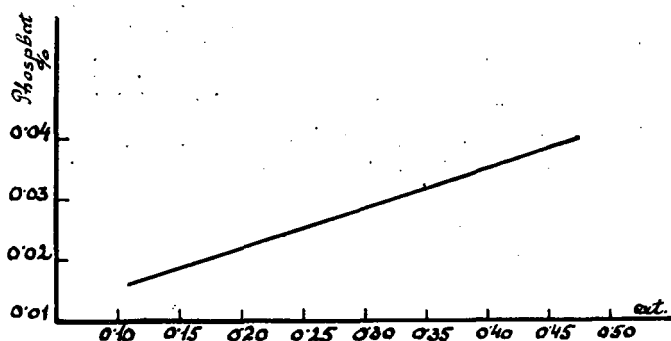
Die Messungen wurden folgend durchgeführt: Zunächst wurden zwei gleiche Küvetten mit dest. Wasser angefüllt (vorausgesetzt, daß die Reaktionslösungen ebenfalls Wasser als Lösungsmittel haben) und bei J, bzw. B in den Apparat eingeschoben. Unter diesen Bedingungen wurde der Apparat — wie oben angegeben — eingestellt. Nun wurde aus der auf der rechten Seite (J) befindlichen Küvette das Wasser entleert und die zu messende farbige Lösung eingefüllt. Der Ausschlag der Galvanometernadel zeigt unmittelbar die Absorption der Lösung in Prozenten an. Auf der Skala E kann man die Extinktion ablesen.

Zwecks Ausschaltung der allgemein bekannten Fehler der kolorimetrischen Bestimmungen führten wir Bestimmungen auch in der Weise aus, daß die links (B) eingeführte Küvette nicht mit dest. Wasser, sondern mit einer Standardlösung angefüllt war, die gleichzeitig mit der zu bestimmenden Lösung bereitet wurde. Dadurch wurde der Unterschied eliminiert, der in der Farbe gleichkonzentrierter Reaktionslösungen, die zu verschiedenen Zeitpunkten bereitet wurden, fallweise auftreten kann und auf nicht genügend genau reproduzierbare, bzw. allgemein vernachlässigte Versuchsbedingungen zurückzuführen ist.

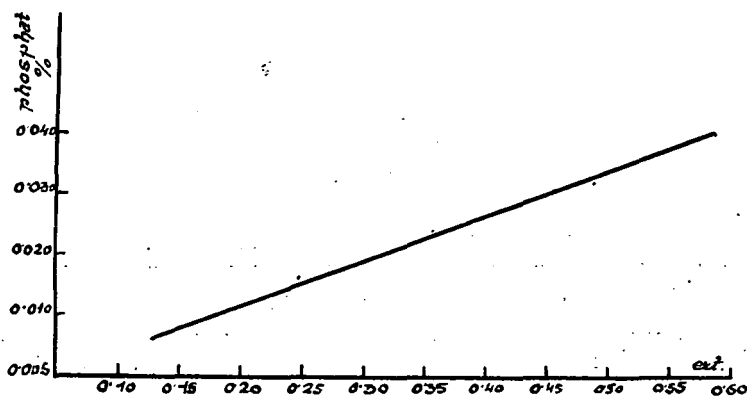
Von den vielen, in der klinischen Laboratoriumspraxis gebräuchlichen kolorimetrischen Bestimmungsmethoden wurden bisher folgende zur Prüfung der Brauchbarkeit des neuen Instrumentes herangezogen: Phosphat-Bestimmung im Blut nach C. FISKE-Y. SUBAROW; Eisenbestimmung im Blut nach R. WILSTÄTTER, Harnsäure-Bestimmung im Blut und Harn nach O. FOLIN und H. WU; Cholesterinbestimmung im Blut nach V. C. MYERS und E. L. WARDEL, Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration nach

L. MICHAELIS und schließlich  $p_H$ -Bestimmung im Blut nach E. G. CULLEN.

Phosphatbestimmung im Blut nach FISKE-SUBAROW<sup>2</sup>. Zur Ermittlung der Phosphatkurve stellten wir zwei Versuchesreihen an: 1. Die zu bestimmende Lösung wurde auf der rechten Seite (J) eingeführt, während die



Kurve 1.



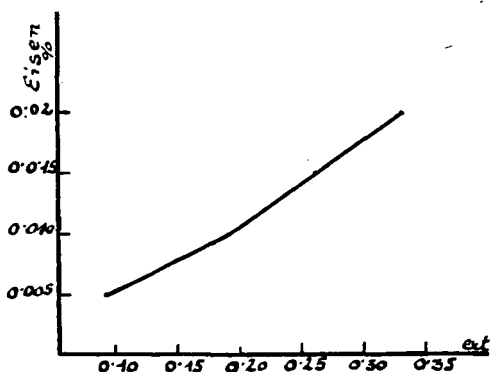
Kurve 2.

links (B) eingeschobene Kuvette mit dest. Wasser angefüllt wurde (Kurve 1); 2. die zu bestimmende Lösung wurde auf der rechten Seite (J) eingeführt, während die links (B) eingeschobene Kuvette, die aus 1 ccm einer Standardlösung

<sup>2</sup> J. of biol. Chem. 66, 375 (1925).

(1 ccm = 0,08 mg P) immer unter denselben Versuchsbedingungen bereitete blaue Lösung enthielt (Kurve 2). — Bei beiden Versuchsreihen wurde das blaue Filter und 10-mm-Küvetten verwendet. — Bei der Bestimmung des anorganischen Phosphats wurden — von der Vorschrift abweichend — aus dem trichloressigsäurem Filtrat nicht 5, sondern 10 ccm in einem 25-ccm-Meßkolben eingeführt; dementsprechend wurden aus der Molybdat II-Lösung 2,5 ccm, aus der Aminonaphtolsulfosäurelösung 1 ccm zugesetzt. Die aus der Tabelle abgelesenen P-Werte sind durch zwei zu dividieren.

Bestimmung des Eisens im Blut<sup>3</sup>. 0,1 ccm Blut werden in einem kleinen Kolben eingeführt, die Pipette mit dest. Was-



Kurve 3.

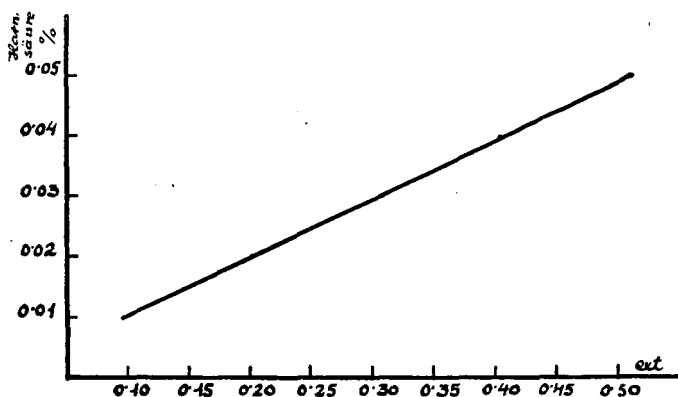
ser nachgespült und die Lösung mit 0,8 ccm konz. Schwefelsäure versetzt. Man erwärmt anfangs mit kleiner, später mit voller Flamme solange, bis das Entweichen weißer Schwefelsäuredämpfe merkbar wird. Man läßt erkalten und setzt die feuchte Veraschung mit 0,5 ccm Wasserstoffsuperoxyd solange fort, bis die Lösung vollkommen farblos wird. Nach dem Erkalten gießt man die Lösung in einen 25-cm-Meßzylinder, spült mit Wasser nach, so daß das Gesamtvolum 15 ccm ausmacht, ergänzt mit 15%iger Kaliumrhodanidlösung bis auf 25 ccm und schüttelt gut durch. Die kolorimetrische Bestimmung soll nach 10 Minuten erfolgen. — Die Bestimmungen wurden ohne Filter in 10-mm-Küvetten

<sup>3</sup> Methode von R. WILLSTÄTTER, Chem. Ber. 53, 1152 (1920).

durchgeführt. Die Küvette mit der Lösung wurde rechts eingeschoben, während auf die linke Seite eine mit dest. Wasser beschickte Küvette eingestellt wurde (Kurve 3).

#### Bestimmung der Harnsäure im Harn und Blut<sup>4</sup>.

Bei diesen kolorimetrischen Bestimmungen wurde das grüne Filter angewendet. Die Lösung wurde in einer 10-mm-Küvette rechts eingeführt, während links eine mit dest. Wasser beschickte 10-mm-Küvette eingestellt wurde. Wird die Bestimmung der Harnsäure im Blut nach der Originalvorschrift durchgeführt, so müssen die aus der Tabelle abgelesenen Prozente der Harnsäure durch 2,5 dividiert werden (Kurve 4).



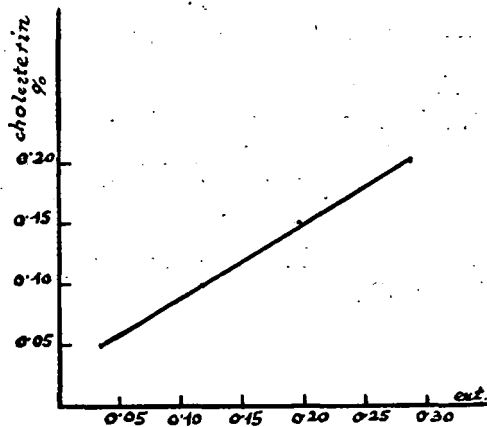
Kurve 4.

Bestimmung des Cholesterins<sup>5</sup>. Bei diesen kolorimetrischen Bestimmungen wurde das grüne Filter angewendet. Die Lösung wurde in der 10-mm-Küvette rechts eingeführt, während die links eingeschobene Küvette mit einer Cholesterin-Standardlösung beschickt wurde, die 0,0025 g Cholesterin pro 100 ccm Chloroform enthielt; 10 ccm dieser Standardlösung wurden vor dem Einfüllen mit 4 ccm Essigsäureanhydrid und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Der aus 1 ccm Blut gewonnene Chloroformauszug wurde ebenfalls auf 10 ccm ergänzt und

<sup>4</sup> O. FOLIN und H. WU, J. of biol. Chem. 38, 459 (1919); O. FOLIN, J. of biol. Chem. 86, 176 (1930).

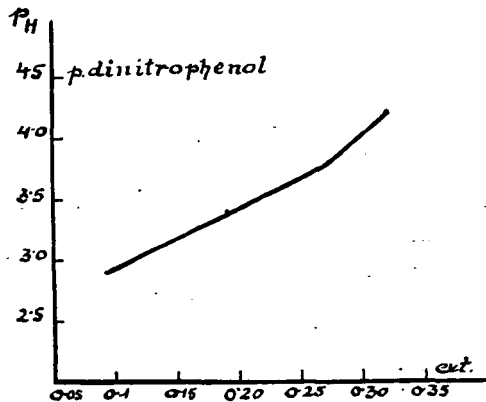
<sup>5</sup> V. C. MYERS und E. L. WARDELL, J. of biol. Chem. 36, 147 (1918).

nachher mit 4 ccm Essigsäureanhydrid und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt (Kurve 5).



Kurve 5.

Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration<sup>6</sup>. Bei diesen Bestimmungen wurde das blaue Filter angewendet und die Lösung in der 10-mm-Küvette rechts einge-

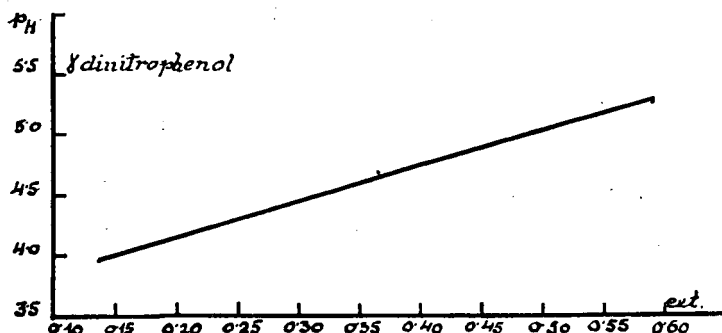


Kurve 6.

führt; links wurde eine mit dest. Wasser beschickte 10-mm-Küvette angebracht (Kurve 6, 7, 8, 9).

<sup>6</sup> L. MICHAELIS, Deutsche Med. Wochenschrift, 1921.

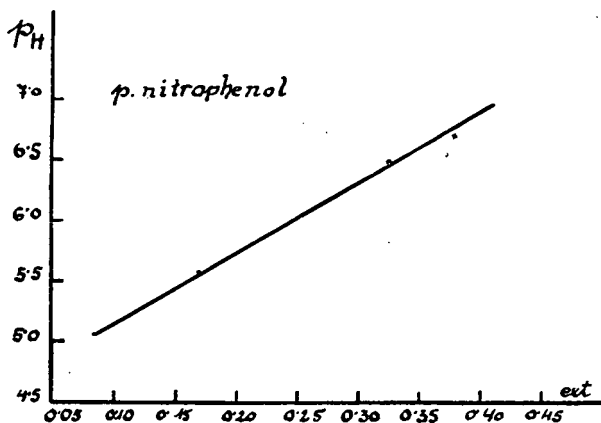
p<sub>H</sub>-Bestimmung im Blut nach E. G. CULLEN<sup>7</sup>. Für die p<sub>H</sub>-Bestimmung mittels Phenolrot ist der Apparat nicht geeignet, da weder durch Änderung des Filters, noch durch Steigerung der



Kurve 7.

Galvanometerempfindlichkeit bei den verschiedenen p<sub>H</sub>-Werten ein verwertbarer Unterschied wahrzunehmen ist.

Nach unseren Erfahrungen hat sich das Instrument in der klinischen Laboratoriumspraxis gut bewährt, da es zur Durchführung



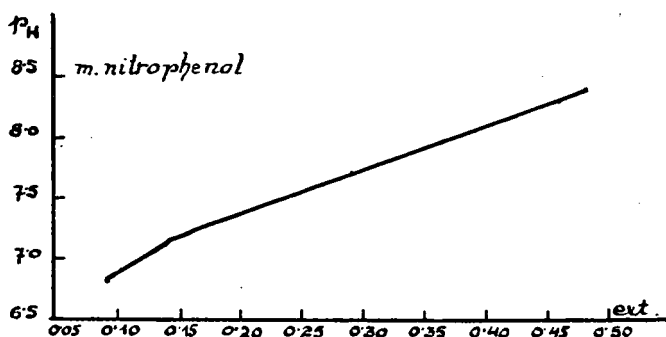
Kurve 8.

der meist gebrauchten kolorimetrischen Messungen gut geeignet ist. Die Fehlergrenze betrug bei einigen Bestimmungen nur

<sup>7</sup> Journ. of biol. Chem. 52, 501 (1922).



$\pm 1$ —2%, bei manchen auch  $\pm 4$ —5%. Es ist selbstverständlich, daß für die größte, erreichbare Genauigkeit die exakte Einstellung des Galvanometers auf 0 bzw. 100 Voraussetzung ist. Die Richtigkeit der Einstellung muß auch während der Messungen öfter kon-



Kurve 9.

trolliert werden. Das Instrument erwärmt sich bei längerem Gebrauch und büßt dadurch seine Empfindlichkeit ein; deshalb ist es empfehlenswert, die Lampe zeitweise auszuschalten und die Messungen erst nach dem Abkühlen des Apparates fortzusetzen.